

The Interactive Effect of Interval Training Intensity and Curcumin Supplementation on Mitochondrial Bnip3 and Parkin Gene Expression in the Heart Tissue of Male Rats' Model of Heart Infarction

Mirzai MR, Gholamrezai S*, Shabani R

Department of Physical Education, Faculty of Humanities, Rasht Branch, Islamic Azad University, Rasht, Iran.

* *Corresponding author.* Tel: +98111818380, Fax: +981333447056, E-mail: gholamrezaei@iaurasht.ac.ir

Received: Sep 27, 2022

Accepted: Dec 21, 2022

ABSTRACT

Background & objectives: The increase of Bnip3 and Parkin plays an important role in maintaining mitochondrial function and inhibiting ROS. A correlation was observed between the mitochondrial respiratory capacity and the subjects' mRNA levels of Bnip3 and Parkin proteins as a result of exercise, which shows the significant role of mitochondrial dynamics on the improvement of respiratory capacity. This study aimed to investigate the effect of eight weeks of high-intensity interval training and curcumin supplementation on Bnip3 and parkin mitochondrial gene expression levels in cardiomyocytes of male heart attack model rats.

Methods: In this experimental study, 32 male Wistar rats were subjected to myocardial infarction using intraperitoneal injection of isoproterenol (100 mg/kg for two consecutive days) and, after confirmation of infarction (troponin measurement), randomly divided into four groups; Control, high-intensity interval training, curcumin (pure curcumin 15mg and dimethyl sulfoxide with a concentration of 10% per kg of body weight five days a week by gavage) and combination group (supplement+exercise). The exercise and combination groups were subjected to high-intensity interval training (10 bouts of four-minute activity with an intensity of 85-90% VO₂max) for eight weeks. Bnip3 and Parkin gene expression levels were obtained using the Real-time PCR method. The data were analyzed using the Kolmogorov-Smirnov test and one-way analysis of variance.

Results: The results showed that there is a significant difference between the mean of the groups in Bnip3 and parkin gene expression levels. The results of Tukey's test showed that the expression level of Bnip3 and Parkin genes was higher in the intense interval training and exercise-supplement groups than in the control and supplement groups. There was no significant difference between the supplement and control groups; in fact the use of curcumin without training did not affect Bnip3 and PARKIN gene expression levels compared to the control group.

Conclusion: This study shows that intermittent exercise and curcumin consumption have a protective effect on mitochondrial quality during infarction.

Keywords: Interval Training; Curcumin; Heart Attack; Bnip3 Gene Expression; Parkin

اثر تعاملی شدت تمرین تناوبی و مصرف مکمل کورکومین بر بیان ژن‌های Parkin و Bnip3 میتوکندریایی بافت قلبی موش‌های نر مدل سکتة قلبی

محمد رسول میرزائی، شهرام غلامرضائی*، رامین شعبانی

گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشکده علوم انسانی، واحد رشت، دانشگاه آزاد اسلامی، رشت، ایران
* نویسنده مسئول. تلفن: ۰۹۱۱۱۸۱۸۳۸۰ فاکس: ۰۱۳۳۳۴۴۷۰۵۶ پست الکترونیک: gholamrezaei@iaurasht.ac.ir

چکیده

زمینه و هدف: افزایش Bnip3 و Parkin نقش مهمی در حفظ عملکرد میتوکندری و مهار ROS دارد. بین ظرفیت تنفسی میتوکندری با سطوح mRNA پروتئین‌های Bnip3 و Parkin آزمودنی‌ها در اثر تمرین، همبستگی مشاهده شده که نشان از نقش بارز دینامیک میتوکندریایی بر بهبود ظرفیت تنفسی دارد. هدف از پژوهش حاضر بررسی اثر هشت هفته تمرین تناوبی با شدت بالا و مصرف مکمل کورکومین بر بیان ژن Bnip3 و Parkin میتوکندریایی کاردیومیوسیت موش‌های نر مدل سکتة قلبی بود.

روش کار: در مطالعه تجربی حاضر ۳۲ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار از طریق تزریق درون صفاقی ایزوپروتینول (۱۰۰ mg/kg - دو روز متوالی) به آنفارکتوس میوکارد مبتلا و پس از اطمینان از آنفارکتوس (سنجش تروپونین)، بطور تصادفی به چهار گروه؛ کنترل، تمرین تناوبی با شدت بالا، کورکومین (۱۵mg) کورکومین خالص و دی متیل سولفوکساید با غلظت ۱۰٪ به ازای هر کیلوگرم از وزن بدن پنج روز در هفته بصورت گاواژ و توام (مکمل + تمرین) تقسیم شدند. گروه‌های تمرین و توام، هشت هفته تحت تمرین (۱۰ وهله فعالیت چهار دقیقه‌ای با شدت ۹۰-۸۵ درصد VO₂max) قرار گرفتند. بیان ژن Bnip3 و Parkin به روش Real-time PCR به دست آمد. داده‌ها توسط آزمون کولموگروف-اسمیرنوف و تحلیل واریانس یکطرفه آنالیز شدند.

یافته‌ها: نتایج نشان داد که بین میانگین گروه‌ها در بیان ژن Bnip3 و Parkin تفاوت معنی‌داری وجود دارد. نتایج آزمون توکی نشان داد که بیان ژن‌های Bnip3 و Parkin در گروه‌های تمرین تناوبی شدید و تمرین - مکمل، بیشتر از گروه‌های کنترل و مکمل بود. بین گروه‌های مکمل و کنترل، تفاوت معنی‌داری وجود نداشت. در واقع استفاده از کورکومین بدون تمرین، تاثیری بر بیان ژن Bnip3 و Parkin نسبت به گروه کنترل نداشت. **نتیجه‌گیری:** این مطالعه نشان می‌دهد تمرین تناوبی و مصرف کورکومین اثر محافظتی بر کیفیت میتوکندریایی در دوره آنفارکتوس دارد.

واژه‌های کلیدی: تمرین تناوبی، کورکومین، سکتة قلبی، بیان ژن Bnip3، Parkin

پذیرش: ۱۴۰۱/۹/۳۰

دریافت: ۱۴۰۱/۷/۵

مقدمه

آنفارکتوس حاد میوکارد، شایع‌ترین و خطرناک‌ترین بیماری در ایالات متحده بوده و در این کشور ۱۳ میلیون نفر مبتلا به این بیماری هستند [۱]. در این بیماری، دینامیک میتوکندری‌های بافت عضله قلبی

بیماری‌های قلبی - عروقی در کشورهای توسعه یافته بیش از هر بیماری دیگری موجب ناتوانی و مرگ شده و هزینه‌های اقتصادی زیادی را تحمیل می‌نماید.

[۸]. 1. Pink پس از وارد شدن به میتو کندری به غشای درونی متصل و نقش اصلی را در راه اندازی هضم وابسته به میتوفاژی میتو کندری های دپلاریزه شده دارد. Pink1 فعال شده، Parkin را برای میتو کندری های آسیب دیده به کار می گیرد تا هضم آنها را از طریق فسفریلاسیون سوبستراهای متعدد تسریع کند. Pink1 بلافاصله Mfn2 را فسفریله می کند که در سلول های قلبی به عنوان گیرنده Parkin عمل می کند [۹]. بیان پیوسته Pink1 متصل شده به غشای خارجی می تواند باعث تجمع میتو کندریایی Parkin پس از اتوفاژی میتو کندری در روش مستقل از پتانسیل غشایی شود. با این حال بر اساس شواهد موجود Pink1 فقط یکی از سوبستراهای Parkin محسوب می شود و سایر سوبستراها از قبیل پروتئین های درگیر در همجوشی (Mfn1,2) و شکافت (Drp1) نیز می توانند باعث فعال شدن Parkin شوند. مشخص شده است میتو کندری هایی که توسط Parkin نشان دار شده اند از جایی که نقطه تقاطع بین میتو کندری های نشان دار شده و شبکه آندوپلاسمی است، ذره ذره بوسیله اتوفاژی هضم می شوند [۱۰]. در این میان تمرین ورزشی باعث بازیابی عملکرد میتو کندری از طریق مهار تغییر شکل پاتولوژیک داینامیک میتو کندری می شود که می تواند با فعال سازی سیگنالینگ ERK1/2-JNK-P53^۱ و افزایش بیان PGC-1 α ^۹ مرتبط باشد [۱۱]. در این راستا، بین ظرفیت تنفسی میتو کندری با سطوح mRNA پروتئین های Bnip3 و Parkin آزمودنی ها در اثر تمرین همبستگی مشاهده شده است که نشان از نقش بارز داینامیک میتو کندریایی بر بهبود ظرفیت تنفسی دارد [۱۲]. این نتایج توسط لی^{۱۰} و همکاران نیز تایید

دستخوش تغییر شده، مقادیر و عملکرد آنزیم های زنجیره تنفسی کاهش و به دنبال آن مقادیر ROS^۱ سلول افزایش می یابد و این امر موجب تخریب سلولی و در نهایت کاهش طول عمر به دنبال کاهش بیوژنز میتو کندری می شود [۲]. در شرایطی که استرس سلولی رخ دهد، قسمتی از میتو کندری آسیب می بیند و برای حفظ و کنترل کیفیت عمل میتو کندری، قسمت آسیب دیده باید حذف گردد. این عمل حذف انتخابی قسمت آسیب دیده میتو کندری را که شکلی از اتوفاژی^۲ است، فرآیند میتوفاژی^۳ گویند [۳]. اتوفاژی تحت شرایط استرس فعال و در شرایط پاتولوژیکی مختلف ایجاد می شود. در پاسخ به هیپوکسی، فاکتور نسخه برداری HIF1^۴ فعال می شود و نسخه برداری BNIP3^۵ و NIX را القاء می کند [۴،۵]. محصولات پروتئینی آنها با Beclin-1 برای ترکیب با BCL2 رقابت می کند، از این رو Beclin-1 آزاد و به آن اجازه داده می شود که اتوفاژی را آغاز نماید. هیپوکسی همچنین PERK^۶ را القاء می کند. تمام این فعالیت های نسخه برداری به شدت اتوفاژی را کنترل می کند و بنابراین افزایش تنظیم کننده های مهم میتو کندری همچون Bnip3 و Parkin از مسیرهای مختلف نقش مهمی در مهار ROS و بیوژنز میتو کندری دارد [۶]. فرآیند میتوفاژی به وسیله لیگازهای یوبیکوئیتین مانند مسیر Parkin-Pink1 تنظیم می شوند. Pink1 یک سرین / ترئونین کیناز است که توسط ژن Pink1 کد گذاری و از سلول در برابر استرس ناشی از اختلال در عملکرد میتو کندریایی محافظت می کند [۷]. اتوفاژی میتو کندری بواسطه مسیر Pink1^۷ Parkin و P62 تثبیت شده ترین مکانیسم میتوفاژی در سلول های پستانداران است

^۸ Extracellular Signal-regulated Kinases/Jun-NH2 Kinase

^۹ Peroxisome Proliferator-activated Receptor Gamma Coactivator 1-alpha

^{۱۰} Lee

^۱ Reactive Oxygen Species

^۲ Autophagy

^۳ Mitophagy

^۴ Hypoxia-Inducible Factor 1

^۵ BCL2 Interacting Protein 3

^۶ PkR-Like ER Kinase

^۷ PTEN-Induced Putative Kinase 1

شد، بطوریکه افزایش در محتوی ^1Mfn 1,2 و Fis1 را ۲۴ ساعت پس از فعالیت ورزشی مشاهده کردند [۱۳]. بنابراین، هر گونه دستکاری مؤثر بر تغییر آپوپتوز کاردیومیوسیت‌ها، در پاتوژنز و درمان بیماری‌های قلبی اهمیت زیادی دارد. در این راستا فعالیت بدنی منظم اثرات مثبتی بر کاهش خطر بیماری‌های قلبی و عروقی دارد [۱۴]. یکی از پروتکل‌های ورزشی که اخیراً مورد توجه پژوهشگران فیزیولوژی ورزشی قرار گرفته است، تمرینات تناوبی با شدت بالا^۲ می‌باشد. اینگونه تمرینات شامل تناوب‌های با شدت زیاد و نوبت‌های استراحتی فعال با شدت پایین است [۱۵]. با این وجود افزایش زیاد متابولیسم، طی این نوع تمرین ممکن است موجب افزایش تولید گونه‌های واکنش پذیر اکسیژن و نیترژن شود که امکان دارد با سیستم‌های دفاع ضد اکسایشی ناکارآمد بدن همراه و باعث ایجاد استرس اکسیداتیو شود [۱۶]. همچنین افراد مبتلا به انفارکتوس میوکارد، سطح بالاتری از رادیکال‌های آزاد اکسیژن را دارا هستند و در نتیجه ورزش شدید در این افراد ممکن است باعث آسیب مضاعف به مولکول‌های مختلف شود [۱۷] و بنابراین پیشگیری از این آسیب‌ها با افزایش محتوای رژیم غذایی دارای آنتی‌اکسیدان بسیار مهم است [۱۸].

از جمله مواد آنتی‌اکسیدانی گیاهی می‌توان به کورکومین اشاره کرد که ترکیب اصلی و فعال زردچوبه است و دارای طیف وسیعی از فعالیت‌های بیولوژیکی و فارموکولوژی می‌باشد. کورکومین به‌عنوان یک آنتی‌اکسیدان مطرح، از قویترین پاکسازی‌کننده‌های رادیکال‌های آزاد می‌باشد. رضائی و همکاران بیان داشتند که مصرف منظم ۸ هفته کورکومین به تنهایی و همراه با انجام تمرین منظم هوازی اینتروال به طور معناداری میزان سلول‌های بنیادی قلبی را افزایش می‌دهد و می‌تواند در ترمیم و

بازسازی قلب مؤثر باشد. همچنین در سلول‌های سرطانی، کورکومین می‌تواند مسیرهای پیام‌رسانی مرتبط با فاکتورهای رشد نظیر کینازهای خارج سلولی و پروتئین کیناز C را مهار و عملکرد ورزشی را بهبود بخشد [۱۹]. لذا به منظور پاسخ به ابهامات موجود، به بررسی اثر هشت هفته تمرین تناوبی با شدت بالا و مصرف مکمل کورکومین بر بیان ژن Bnip3 و Parkin میتوکندریایی کاردیومیوسیت موش‌های نر مدل سکنه قلبی پرداخته شد.

روش کار

مطالعه تجربی حاضر پس از تایید در کمیته پزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد رشت به شماره مرجع IR.IAU.RASHT.REC.1400.009 بر روی ۳۲ سر موش صحرایی نر هفت ماهه ویستار که از مؤسسه پاستور ایران خریداری شده بود انجام شد. شرایط نگهداری برای همه نمونه‌ها یکسان بود و دما، رطوبت محیط و چرخه روشنایی- تاریکی نیز به صورت ۱۲:۱۲ کنترل شد. جهت جلوگیری از استرس و تغییر شرایط فیزیولوژیکی، حیوانات مورد مطالعه به مدت دو هفته تحت شرایط استاندارد جدید با دمای (22 ± 2) سانتی‌گراد، رطوبت نسبی (50 ± 5) درصد و چرخه تاریکی به روشنایی ۱۲:۱۲ ساعته در حیوانخانه مرکزی نگهداری شدند. جهت ایجاد انفارکتوس تجربی میوکارد از تزریق درون صفاقی ایزوپروترونول به میزان ۱۰۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم از وزن بدن به صورت محلول در نرمال سالین در دو روز متوالی و با فاصله ۲۴ ساعت استفاده شد. برای اطمینان از القای انفارکتوس میوکارد تجربی، از اندازه‌گیری تروپونین I قلبی (cTnI) استفاده شد که با ریختن مستقیم نمونه خونی با قطره چکان روی نوار اندازه‌گیری و مثبت شدن جواب، موش‌های صحرایی واجد شرایط وارد تحقیق شدند. پس از اطمینان از القای انفارکتوس میوکارد، موش صحرایی جهت آشنایی با نحوه فعالیت روی نوارگردان الکترونیکی

¹ Mitofusin

² High Intensity Interval Training

هوشمند حیوانی در برنامه آشنایی شرکت داده شدند. ابتدا موش‌های صحرایی به مدت یک هفته در طی پنج جلسه به مدت ۱۰ تا ۱۵ دقیقه در هر جلسه با سرعت ۸ تا ۱۰ متر بر دقیقه روی نوارگردان به فعالیت پرداختند. موش‌های صحرایی پس از مرحله آشنایی، به طور تصادفی به ۴ گروه (هر گروه ۸ سر) شدند و گروه‌بندی بدین صورت شکل گرفت که ۳۲ سر موش در چهار گروه که هر گروه شامل هشت سر موش از قبیل گروه کنترل، گروهی که فقط مکمل کورکومین دریافت کردند، گروهی که تحت ورزش تناوبی با شدت بالا قرار گرفته و همچنین گروهی که علاوه بر ورزش تناوبی با شدت بالا، مکمل کورکومین نیز دریافت نمودند، تقسیم بندی شدند.

تجویز کورکومین

مقدار ۱۵ میلی گرم کورکومین خالص و دی متیل سولفوکساید با غلظت ۱۰٪ ساخت شرکت سیگمای آلمان به ازای هر کیلوگرم از وزن بدن پنج روز در هفته و به صورت گاوژ به گروه‌های مکمل و تمرین+ مکمل داده شد. برای خنثی‌سازی اثرات حلال، دوز مشابه حلال به صورت گاوژ به همه حیوانات دو گروه دیگر نیز داده شد.

پروتکل تمرین تناوبی

پروتکل HIIT مورد استفاده، برنامه تمرینی تعدیل شده توسط هافستاد^۱ و همکاران بود که به مدت ۸ هفته و ۵ جلسه در هفته بر روی نوارگردان اجرا شد. پروتکل HIIT شامل اجرای ۱۰ وهله فعالیت ۴ دقیقه‌ای با شدت ۹۰-۸۵ درصد VO_{2max} و با دوره‌های استراحتی فعال ۲ دقیقه‌ای بود که به صورت پیش‌رونده تا هفته ششم، سرعت نوارگردان افزایش یافت و دو هفته پایانی (هفتم و هشتم) سرعت نوارگردان حفظ شد. بر این اساس، سرعت نوارگردان از ۲۵ متر بر دقیقه در هفته اول به ۳۲ متر بر دقیقه در هفته ششم رسید و دو هفته پایانی این سرعت حفظ شد. همچنین، دوره‌های استراحت فعال از

¹ Hafstad

سرعت ۱۱ متر بر دقیقه در هفته اول به سرعت ۱۶ متر بر دقیقه در هفته هشتم رسید و دو هفته پایانی این سرعت حفظ شد. توان هوازی از پروتکل غیرمستقیم با استفاده از نوارگردان برآورد شد. بر این اساس، بعد از ۱۰ دقیقه گرم کردن، آزمون دوییدن رت‌ها شروع و سرعت نوارگردان هر ۲ دقیقه یک بار به میزان 0.3 m/s (۱/۸ تا ۲) افزایش یافت تا حیوانات دیگر قادر به دوییدن نباشند. سرعتی که در آن VO_{2max} بدست آمد به عنوان سرعت ماکزیمم تعریف شد [۱۴].

جراحی حیوانات آزمایشگاهی و استخراج نمونه

در این تحقیق سعی بر آن بود تا حیوانات مورد مطالعه در کمترین زمان ممکن و با حداقل درد و آزار کشته شوند. تمامی موش‌های صحرایی، ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرین، توسط تزریق درون‌صفاقی کتامین (۹۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم) و زایلازین (۱۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم) بیهوش، جراحی انجام و موش‌های صحرایی تشریح شدند و در ادامه پس از شکافتن و کنارزدن بافت‌های سطحی، بافت قلب خارج شد. استخراج نمونه‌های بافتی از طریق هموژن کردن در بافر لیز با غلظت ۱۰۰ میلی گرم بافت در یک میلی‌لیتر بافر انجام شد. نمونه‌های هموژن به مدت ۴۰ دقیقه با دور ۱۲۰۰۰ روی یخ سانتریفوژ شدند. سپس بخش سطحی سانتریفوژ جمع‌آوری شد و تا زمان تحلیل در دمای ۸۰- درجه نگه‌داری شد. بافت عضله قلبی نمونه‌برداری شده پس از شستشو در سرم فیزیولوژیک در میکروتیوب‌های ۱/۸ حاوی مایع RNA laterTM با نسبت ۲۰ درصد غوطه‌ور گردیده و جهت انجام آزمایش‌های ژنتیک به آزمایشگاه انتقال داده شد. اندازه‌گیری بیان ژن‌های فاکتورهای مورد نظر از بافت عضله قلبی به وسیله تکنیک PCR-time Real سنجش و پس از کمی‌سازی مقادیر بیان با ژن استفاده از فرمول $\Delta\Delta Ct$ تجزیه و تحلیل شد. واکنش PCR با استفاده از

درجه به مدت ۲۰ ثانیه و ۶۰ درجه به مدت ۶۰ ثانیه ادامه یافت. با استفاده از رنگ SYBR Green، میزان آمپلی فیکاسیون^۳ در هر چرخه دنبال شد. در چرخه‌ای که واکنش تکثیر، وارد مرحله لگاریتمی می‌شود و تحت عنوان CT^۴ گفته می‌شود، میزان افزایش محصولات اندازه‌گیری می‌شود. پس از اتمام واکنش تکثیر، برای هر واکنش PCR یک نمودار رسم و سپس بر این اساس CT تعیین شد. در پایان قبل از آنالیز داده‌ها، منحنی ذوب^۵ بدست آمده از هر واکنش Real-time PCR بررسی شد تا پیک مربوط به ژن مورد نظر و فقدان پرایمر دایمر تایید شود. برای آنالیز داده‌ها ابتدا، ΔCt ژن در هر نمونه از افتراق Ct ژن مربوطه و Ct β -actin به عنوان رفرنس محاسبه شد [۱۱]. در این بخش ابتدا توزیع توأم و بهنجار توسط آزمون کولموگروف-اسمیرنوف مورد ارزیابی قرار گرفت. سپس داده‌های حاصله توسط آزمون آنالیز یکطرفه و تعقیبی توکی برای تعیین اختلاف میزان شاخص‌های مورد نظر بین گروه‌های مختلف مورد بررسی قرار گرفتند. تمامی محاسبات آماری در سطح معنی‌داری ۰/۰۵ و با استفاده از نرم افزار SPSS-22 انجام شد. توالی پرایمرهای مورد استفاده در جدول ۱ ارائه شده است.

PCR (Applied Biosystems) Master Mix و SYBR Green در دستگاه (Applied Biosystems, Foster City, CA) طبق پروتکل شرکت سازنده انجام گرفت. توالی پرایمرهای مورد استفاده در جدول ۱ ارائه شده است. برای سنجش کمی بیان ژن‌های مورد نظر از کیت (SYBR-Green Real Time RT-PCR, TAKARA) (ژاپن) استفاده شد. غلظت‌های ۱/۲۰، ۱/۱۰ و ۱/۵۰ میکرولیتر از cDNA سنتز شده تهیه شد. غلظت ۱/۲۰ به عنوان الگو برای Real-time PCR استفاده شد. cDNA با پرایمرهای مخصوص برای ژن‌های Bnip3 و Parkin تکثیر شد. طبق دستورالعمل کیت، واکنش تکثیری در حجم ۲۰ میکرولیتر انجام شد که مشتمل بر ۱۰ میکرولیتر از محلول اصلی^۱، ۰/۳ میکرولیتر از پرایمر Forward، ۰/۳ میکرولیتر از پرایمر Reverse، دو میکرولیتر از cDNA سنتز شده و ۷/۴ میکرولیتر آب مقطر می‌باشد. سپس میکروتیوپ به مدت ۳۰ ثانیه بر روی دستگاه Shaker کاملاً تکان داده و میکروتیوپ به مدت ۳۰ ثانیه میکروفیوژ گردید و داخل دستگاه RT-PCR قرار گرفت. الگوی دمایی PCR برای ژن‌های مربوطه به صورت ۹۵ درجه به مدت ۱۰ دقیقه برای سیکل اول بود که با ۴۵ سیکل به صورت دو مرحله‌ای ۹۵

جدول ۱. توالی پرایمرهای مورد استفاده در پژوهش حاضر

Gene	Forward/ Reverse	Primer(5 to3)	Tm	Product length	Accession Number
Bnip3	Forward	TATATGGCCCCAGCATGCGA	59.12	96	XM_007764288.2
	Reverse	GTATATGGCAGTCGACCTCA	60.36		
Parkin	Forward	ATCCAATATAAGCAGGGCTG	61.10	176	XM_018597844.1
	Reverse	AGCATCGCAAGGCAGTGGA	60.57		

مختلف موش‌های نر مدل سکنه قلبی دیده می‌شود ($p < 0.001$). برخی ویژگی‌های فیزیکی موش‌های صحرایی مورد مطالعه در جدول ۲ ارائه گردیده است.

یافته‌ها

با استفاده از آزمون آنووا یکطرفه^۲ مشخص گردید که تفاوت آماری معنی‌داری بین میانگین وزن قلب موش‌های مورد تحقیق (گرم) در بین گروه‌های

³ Amplification

⁴ Threshold Cycle

⁵ Melting Curve

¹ Master Mix

² One Way ANOVA

جدول ۲. برخی ویژگی‌های فیزیکی موش‌های صحرایی مورد مطالعه

شاخص‌های اندازه‌گیری شده	گروه	تعداد	میانگین	جمع مجذورات	درجه آزادی	میانگین مجذورات	F	P
وزن قلب (گرم)	کنترل	۸	0.785 ± 0.02	0.083	۵	0.017	۷/۱۷	$P < 0.0001$ *
	مکمل	۷	0.785 ± 0.05					
	HIIT	۷	0.92 ± 0.05					
	HIIT+مکمل	۷	0.95 ± 0.07					

استفاده شد. آزمون تعقیبی توکی گروه‌های مختلف در بیان ژن PARKIN در جدول ۴ ارائه گردیده است. همچنین مقادیر بیان ژن PARKIN در کاردیومیوسیت‌های گروه‌های مختلف در شکل ۱ ارائه شده است.

جدول ۳. میانگین میزان بیان ژن PARKIN

گروه	تعداد	Mean ± SD
کنترل	۸	2.01 ± 0.01
مکمل	۷	2.12 ± 0.13
HIIT	۷	2.93 ± 0.17
HIIT+مکمل	۷	3.11 ± 0.19

با استفاده از آزمون آنوای یکطرفه مشخص گردید که تفاوت آماری معنی‌داری بین میانگین میزان بیان ژن Parkin در بین گروه‌های مختلف موش‌های نر مدل سکتة قلبی دیده می‌شود ($p < 0.0001$). نتایج آزمون تحلیل واریانس یک طرفه نشان داد که تمرین و مصرف مکمل کورکومین در تعامل با هم و تمرین تناوبی به تنهایی بر میزان بیان ژن Parkin کاردیومیوسیت‌های موش‌های صحرایی تاثیر معنی‌داری دارد ($p < 0.0001$). میانگین میزان بیان ژن Parkin در جدول ۳ ارائه شده است.

در ادامه جهت بررسی تفاوت بین گروه‌های مختلف موش‌های نر مدل سکتة قلبی از آزمون تعقیبی توکی

جدول ۴. آزمون تعقیبی توکی گروه‌های مختلف در بیان ژن PARKIN

کنترل	مکمل	HIIT	HIIT+مکمل
کنترل	$P = 0.712$	$P < 0.0001$	$P < 0.0001$
مکمل	$P = 0.712$	$P < 0.0001$	$P < 0.0001$
HIIT	$P < 0.0001$	$P = 0.234$	$P < 0.0001$
HIIT+مکمل	$P < 0.0001$	$P < 0.0001$	$P = 0.234$



شکل ۱. مقادیر بیان ژن PARKIN در کاردیومیوسیت‌های گروه‌های مختلف

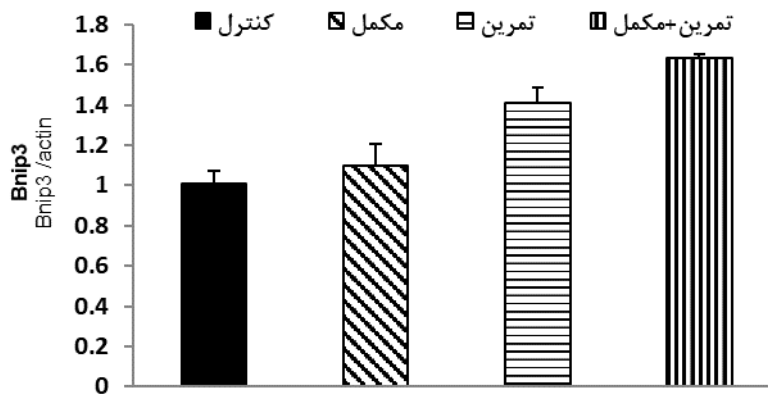
در ادامه جهت بررسی تفاوت بین گروه‌های مختلف موش‌های نر مدل سکنه قلبی از آزمون تعقیبی توکی استفاده شد. آزمون تعقیبی توکی گروه‌های مختلف در بیان ژن Bnip3 در جدول ۶ گزارش گردیده است.

جدول ۵. میانگین میزان بیان ژن Bnip3

Mean± SD	تعداد	گروه
۱/۰۱±۰/۰۶۳	۸	کنترل
۱/۱±۰/۱۰۴	۷	مکمل
۱/۴۱±۰/۰۷۳	۷	HIIT
۱/۶۳±۰/۰۱۹	۷	مکمل+HIIT

با استفاده از آزمون آنووا یکطرفه مشخص گردید که تفاوت آماری معنی‌داری بین میانگین میزان بیان ژن Bnip3 در بین گروه‌های مختلف موش‌های نر مدل سکنه قلبی دیده می‌شود ($p < 0.0001$). میانگین میزان بیان ژن Bnip3 در جدول ۵ گزارش شده است.

نتایج آزمون تحلیل واریانس یک طرفه نشان داد که تمرین و مصرف مکمل کورکومین در تعامل با هم و نوع تمرین تناوبی به تنهایی بر میزان بیان ژن Bnip3 کاردیومیوسیت‌های موش‌های صحرایی تاثیر معنی‌داری دارد ($p < 0.0001$). مقادیر بیان ژن Bnip3 در کاردیومیوسیت‌های گروه‌های مختلف در شکل ۲ ارائه شده است.



شکل ۲. مقادیر بیان ژن Bnip3 در کاردیومیوسیت‌های گروه‌های مختلف

جدول ۶. آزمون تعقیبی توکی گروه‌های مختلف در بیان ژن Bnip3

HIIT+مکمل	HIIT	مکمل	کنترل	
$P<0/0001$	$P<0/0001$	$P=0/109$		کنترل
$P<0/0001$	$P<0/0001$		$P=0/109$	مکمل
$P<0/0001$		$P<0/0001$	$P<0/0001$	HIIT
	$P<0/0001$	$P<0/0001$	$P<0/0001$	HIIT+مکمل

بحث

هدف از پژوهش حاضر بررسی اثر هشت هفته تمرین تناوبی با شدت بالا و مصرف مکمل کورکومین بر بیان ژن Bnip3 و Parkin میتوکندریایی کاردیومیوسیت موش‌های نر مدل سکتة قلبی بود. در خصوص ژن Parkin نتایج تحقیق حاضر نشان داد که مقادیر بیان ژن Parkin در گروه‌های تمرین تناوبی شدید و همچنین گروه‌های تمرینی که از مکمل کورکومین استفاده کرده بودند بیشتر از دو گروه کنترل و مکمل بود.

بین دو گروه مکمل و کنترل تفاوت معنی‌داری وجود نداشت ($p=0/712$) و در واقع استفاده از مکمل کورکومین بدون تمرین تأثیری بر بیان ژن Parkin نسبت به گروه کنترل نداشت. مقادیر بیان ژن Parkin در گروه کنترل به جز گروه مکمل کورکومین با گروه‌های تمرین تناوبی شدید و همچنین گروه‌های تمرینی شدید به همراه استفاده از مکمل کورکومین تفاوت آماری معنی‌داری داشت (همگی $p<0/0001$) و به طور معنی‌داری کمتر از مقادیر بیان ژن Parkin در گروه‌های دیگر عنوان شده بود.

مقادیر بیان ژن Parkin در گروه مکمل کورکومین به جز گروه کنترل با گروه‌های تمرین تناوبی شدید و همچنین گروه‌های تمرینی شدید به همراه استفاده از

مکمل کورکومین تفاوت آماری معنی‌داری داشت (همگی $p<0/0001$) و به طور معنی‌داری کمتر از مقادیر بیان ژن Parkin در گروه‌های دیگر عنوان شده بود.

مقادیر بیان ژن Parkin در گروه HIIT تنها با بیان ژن Parkin در گروه‌های کنترل و مکمل کورکومین تفاوت آماری معنی‌داری داشت ($p<0/0001$) و $p<0/0001$ بطوری که به طرز معنی‌داری بیشتر از مقادیر بیان ژن Parkin در گروه‌های کنترل و مکمل کورکومین بود و با بیان ژن Parkin در گروه HIIT+مکمل تفاوت آماری معنی‌داری نداشت.

مقادیر بیان ژن Parkin در گروه HIIT+مکمل تنها با بیان ژن Parkin در گروه‌های کنترل و مکمل کورکومین تفاوت آماری معنی‌داری داشت ($p<0/0001$ و $p<0/0001$) به شکلی که به طور معنی‌داری بیشتر از مقادیر بیان ژن Parkin در گروه‌های کنترل و مکمل کورکومین بود و با بیان ژن Parkin در گروه HIIT تفاوت آماری معنی‌داری نداشت.

در خصوص ژن Bnip3 نتایج تحقیق حاضر نشان داد که مقادیر بیان Bnip3 در گروه‌های تمرین تناوبی شدید و همچنین گروه‌های تمرینی که از مکمل کورکومین استفاده کرده بودند بیشتر از دو گروه کنترل و مکمل بود.

بین دو گروه مکمل و کنترل تفاوت معنی‌داری وجود نداشت ($p=0/109$) و در واقع استفاده از مکمل کورکومین بدون تمرین تأثیری بر بیان ژن Bnip3 نسبت به گروه کنترل نداشت.

مقادیر بیان ژن Bnip3 در گروه کنترل به جز گروه مکمل کورکومین با گروه‌های تمرین تناوبی شدید و همچنین گروه‌های تمرینی شدید به همراه استفاده از مکمل کورکومین تفاوت آماری معنی‌داری داشت (همگی $p<0/0001$) به طور معنی‌داری کمتر از مقادیر بیان ژن Bnip3 در گروه‌های دیگر عنوان شده بود.

مقادیر بیان ژن Bnip3 در گروه مکمل کورکومین به جز گروه کنترل ($p=0/109$) با گروه‌های تمرین تناوبی شدید و همچنین گروه‌های تمرینی شدید به همراه استفاده از مکمل کورکومین تفاوت آماری معنی‌داری داشت (همگی $p<0/0001$) و به طور معنی‌داری کمتر از مقادیر بیان ژن Bnip3 در گروه‌ها به جز گروه کنترل بود.

مقادیر بیان ژن Bnip3 در گروه HIIT با همه گروه‌ها تفاوت آماری معنی‌داری داشت (همگی $p<0/0001$) به گونه‌ای که به طور معنی‌داری کمتر از مقادیر بیان ژن Bnip3 در گروه HIIT+ مکمل بود ولی به طور معنی‌داری بیشتر از گروه‌های کنترل و مکمل کورکومین بود.

مقادیر بیان ژن Bnip3 در گروه HIIT+ مکمل با همه گروه‌ها تفاوت آماری معنی‌داری داشت (همگی $p<0/0001$) و به طور معنی‌داری بیشتر از مقادیر بیان ژن Bnip3 در کلیه گروه‌های دیگر بود.

نتایج این پژوهش با نتایج حاصل از مطالعات لیتل^۱ و همکاران، هوشینو و همکاران، و عزیز و همکاران همسو بود. القاء انفارکتوس میوکارد منجر به کاهش عملکرد میتوفاژی به واسطه کاهش پروتئین‌های اصلی درگیر در این فرایند می‌شود. تغییرات متابولیکی

به‌عنوان مکانیسم اصلی درگیر در گسترش و پیشرفت رمودولینگ پاتولوژیکی قلب می‌باشد [۱۷]. میوکارد یک بافت با ظرفیت اکسیداتیوی بالایی می‌باشد که میتوکنندری‌ها نقش اساسی را در حفظ عملکرد مطلوب قلب ایفا می‌کنند. عملکرد میتوکنندری وابسته به فرایندهای همجوشی، شکافت و همچنین میتوفاژی می‌باشد که تغییرات در مورفولوژی میتوکنندری می‌تواند به‌عنوان مکانیسمی برای سازگاری‌های بیولوژیکی برای بازسازی آسیب‌های قلبی عمل کند به طوری که یکی از مهمترین ویژگی‌های داینامیک میتوکنندری که در رمودولینگ قلب می‌تواند درگیر باشد حذف میتوکنندری‌های آسیب‌دیده به واسطه فرایند میتوفاژی می‌باشد و با توجه به نقش Bnip3 و Parkin در فرایند میتوفاژی به نظر می‌رسد در پژوهش حاضر سازگاری با هشت هفته تمرین تناوبی شدید موجب افزایش بیان ژنی تنظیم‌گرهای بایوژنز و ادغام میتوکنندریایی در رت‌های مدل سکنه قلبی می‌شود و بدینوسیله بایوژنز میتوکنندریایی را تحریک کرده است [۲۰]. انفارکتوس میوکارد^۲، با انهدام و مرگ سلولی غیرقابل برگشت بخشی از عضله قلب که به علت از بین رفتن جریان خون و وقوع یک ایسکیمی شدید در آن قسمت از قلب و در نتیجه انسداد عروق تغذیه‌کننده قلب روی می‌دهد و با بالابودن شیب پروتون در غشای داخلی میتوکنندریایی، اکسیژن به صورت گونه‌های اکسیژن واکنشی تولید و موجب آسیب DNA هسته‌ای و کاهش میتوفاژی میتوکنندریایی می‌شود [۲۱]. میتوفاژی برای حفظ هموستاز قلبی ضروری می‌باشد که توسط مطالعات انجام شده در موش‌های فاقد مولفه‌های میتوفاژی حمایت می‌شود [۲۲]. در همین راستا، موش‌های فاقد پروتئین Pink1 با اختلالات بطن چپ، هایپرتروفی عضله قلب، افزایش استرس اکسیداتیو و اختلال در عملکرد میتوکنندری همراهند. همچنین، موش‌های

¹ Litell

² Myocardial Infarction

فاقد Parkin حساسیت بیشتری به کاردیومیوپاتی دارند و مستعد انفارکتوس میوکارد با ناحیه انفارکتوسی بزرگتر و کاهش بقاء پس از انفارکتوس می‌باشد [۲۳]. در مطالعه حاضر، تمرین تناوبی و کور کومین پس از القاء انفارکتوس میوکارد با افزایش سطوح پروتئین‌های اصلی درگیر در فرایند میتوفاژی همراه بود. بیان هر دو ژن Bnip3 و Parkin که در پاسخ به انفارکتوس میوکارد کاهش پیدا می‌کند در مطالعه حاضر در گروه‌های تمرین و توام افزایش معنی‌دار داشته است.

احتمالاً تنش ناشی از تمرین تناوبی با شدت بالا به‌عنوان محرک قوی باعث اتساع عروق و افزایش جریان خون در عضلات می‌شود و با تأثیر بر بهتر شدن ره‌ایش کلسیم در اثر کاهش غلظت ATP میتو کندی، علاوه بر افزایش کلسیم سیتوزولی غلظت کلسیم ماتریکس میتو کندی را نیز سبب شده که سطح کلسیم را به حد کافی افزایش داده و دهیدروژنازهای ماتریکس را فعال می‌کند [۲۴]. در همین زمینه هوشینو^۱ و همکاران به بررسی اثر چهار هفته HIIT بر تغییرات آنزیم‌های میتو کندیایی در عضلات قرمز و سفید رت‌ها پرداختند. پروتکل تمرینی شامل پنج روز در هفته دویدن با شدت ۳۰ تا ۵۵ متر در دقیقه بود. نتایج بیانگر افزایش بیشتر Parkin در عضله قرمز به نسبت عضله سفید بود [۲۱]. لیتل و همکاران، در پژوهش خود بیان کردند یک جلسه HIIT در قالب تست دوچرخه وینگیت بیان ژن Parkin و PGC-1 α را در عضله اسکلتی آزمودنی‌های مرد سالم تا ۲۵ درصد افزایش می‌دهد [۲۵]. جئونگ و همکاران نیز در بررسی بیان برخی از ژن‌های تأثیر گذار در بیوژنز و دینامیک میتو کندی عضلات اسکلتی موش‌های نر نوع وحشی در پاسخ به ورزش استقامتی حاد، نشان دادند که میزان بیان ژن‌های BNP3، Opa1 و MFN2 و پروتئین شکافت میتو کندی Drp1 به طور معنی‌داری در عضلات

اسکلتی موش‌های تمرین کرده نسبت به گروه کنترل افزایش یافتند. نتایج تحقیق آنها نشان داد که تمرینات استقامتی، هم همجوشی میتو کندی و هم فرآیندهای شکافت را ارتقا داده و باعث افزایش پروتئین عامل محرک بیوژنز میتو کندی شد، این مسئله نشان می‌دهد که اتوفاژی نقش مهمی در بیوژنز میتو کندی ایفا می‌کند و این هماهنگی بین این فرآیندهای متضاد در سازگاری سلولی با تمرینات استقامتی دخیل است [۲۶]. همچنین عزیزی و همکاران [۲۲] در پژوهش خود نشان دادند که دو ماه تمرین تناوبی شدید (سه روز در هفته) با شدت ۱۲۰ درصد سرعت پیشینه موجب افزایش معنی‌دار Bnip3 در سطح سرمی آزمودنی‌های زن دارای اضافه وزن می‌شود [۲۳]. اما مهمترین یافته تحقیق حاضر این بود که میزان تغییرات در گروه توام نسبت به گروه تمرین، بهبودی بیشتری داشت اما معنی‌دار نبود. این یافته‌ها نشان‌دهنده تأثیر تمرین تناوبی در محافظت از بروز نقص میتو کندیایی در دوران سکت قلبی است، اگرچه دلیل اصلی آن هنوز کامل مشخص نیست، اما ممکن است سطح بالای PGC-1 α که عدم سنجش آن از محدودیت‌های پژوهش حاضر است در دوره تمرین ورزشی بتواند از کیفیت میتو کندیایی در این دوران محافظت کند. کانگ و همکاران، و ساندری و همکاران عنوان کردند سطح پایه بالای Bnip3 و Parkin می‌تواند هدر رفت میتو کندیایی و آتروفی عضلانی ناشی از انفارکتوس قلبی را کاهش دهد. علاوه بر PGC-1 α تولید میتو کندیایی ROS می‌تواند به عنوان مولکول سیگنالینگ عمل کند و منجر به واکنش‌های بقاء یا ایجاد آسیب به اجزا سلولی شود [۹،۲۴]. شواهد اخیر نشان می‌دهد که فعالیت ورزشی می‌تواند منجر به افزایش مقاومت به استرس اکسیداتیو از طریق حفظ تعادل بین آنتی‌اکسیدان و پرواکسیدان‌ها شود [۲].

¹ Hoshino

نتیجه گیری

پس از فاز حاد انفارکتوس میوکارد، مجموعه‌ای از تغییرات ساختاری و عملکردی در میوکارد ایجاد می‌شود که شامل فیبروز، التهاب، هیپرتروفی میوسیت‌ها و آپوپتوز می‌باشد که در نهایت منجر به نارسایی پیشرفته قلبی می‌شود. نتایج پژوهش حاضر نشان داد که تمرین تناوبی با شدت بالا و مصرف کورکومین، منجر به فواید متابولیکی سیستمیک می‌شود که احتمالاً می‌تواند از طریق بهبود عملکرد میتوکندریایی با حذف میتوکندری‌های ناکارآمد به واسطه افزایش بیان ژن‌های درگیر در میتوفاژی از پیشرفت بیماری‌های قلبی پس از MI جلوگیری کند و طبق نتایج ارائه شده مصرف مکمل بدون تمرین و یا

تمرین بدون مکمل نسبت به حالتی که هم تمرین تناوبی با شدت بالا انجام شده بود و هم مکمل مصرف شده بود تاثیر کمتری داشت.

تشکر و قدردانی

این مطالعه در کمیته پزشکی دانشگاه آزاد واحد رشت به شماره مرجع IR.IAU.RASHT.REC.1400.009 به تأیید رسیده و منتج از رساله دکتری می‌باشد. بدینوسیله نویسندگان تشکر و قدردانی خود را از این واحد دانشگاهی و تمامی دوستان و همراهان که در به ثمر نشستن این مقاله نویسندگان را مورد تفقد و مهربانی قرار دادند اعلام می‌دارند.

References

- 1- Shabani M, Chubineh S, Kurdi MR, Afghan M. The effect of eight weeks of intense intermittent training on the expression of PGC-1 α and VEGF genes in the heart muscle of healthy male rats. *J Sport Biosci.* 2016 Aug; 8(2):169-176. [Full text in Persian]
- 2- Adhietty PJ, Uguccioni G, Leick L, Hidalgo J, Pilegaard H, Hood DA. The role of PGC-1 α on mitochondrial function and apoptotic susceptibility in muscle. *Am J Physiol Cell Physiol.* 2009 Jul; 297(1): 217-25.
- 3- Ishihara N, Eura Y, Mihara K. Mitofusin 1 and 2 play distinct roles in mitochondrial fusion reactions via GTPase activity. *J Cell Sci.* 2004 Dec; 117(26):6535-46.
- 4- Sandri M, Lin J, Handschin C, Yang W, Arany ZP, Lecker SH, et al. PGC-1 α protects skeletal muscle from atrophy by suppressing FoxO3 action and atrophy-specific gene transcription. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2006 Oct; 103(44):16260-5.
- 5- Iqbal S, Ostojic O, Singh K, Joseph AM, Hood DA. Expression of mitochondrial fission and fusion regulatory proteins in skeletal muscle during chronic use and disuse. *Muscle Nerve.* 2013 Dec; 48(6):963-70.
- 6- Aoi W, Naito Y, Mizushima K, Takanami Y, Kawai Y, Ichikawa H, et al. The microRNA miR-696 regulates PGC-1 α in mouse skeletal muscle in response to physical activity. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2010 Apr; 298(4):799-806.
- 7- Kang C, Chung E, Diffie G, Ji LL. Exercise training attenuates aging-associated mitochondrial dysfunction in rat skeletal muscle: role of PGC-1 α . *Exp Gerontol.* 2013 Nov; 48(11):1343-50.
- 8- Ono T, Isobe K, Nakada K, Hayashi JI. Human cells are protected from mitochondrial dysfunction by complementation of DNA products in fused mitochondria. *Nat Genet.* 2001 Jul; 28(3):272-5.
- 9- Kang C, Goodman CA, Hornberger TA, Ji LL. PGC-1 α overexpression by in vivo transfection attenuates mitochondrial deterioration of skeletal muscle caused by immobilization. *FASEB J.* 2015 Oct; 29(10):4092-106.
- 10- Hadidi V, Kordi M, Gaeini A, Nekoie A, Shafie A, Hajati Modaraie M. Effect of eight weeks high intensity interval training on gene expression of PGC-1 α , in male healthy rats fast-slow twitch muscles. *J sport biosci.* 2016 winter; 7(4):661-73. [Full text in Persian]
- 11- Powers SK, Wiggs MP, Duarte JA, Zergeroglu AM, Demirel HA. Mitochondrial signaling contributes to disuse muscle atrophy. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2012 Jul. 303(1): E31-9.
- 12- Kwak HB. Effects of aging and exercise training on apoptosis in the heart. *J Exerc Rehabil.* 2013 Apr; 9(2):212-219.

- 13- Lee Y, Min K, Talbert EE, Kavazis AN, Smuder AJ, Willis WT, et al. Exercise protects cardiac mitochondria against ischemia reperfusion injury. *Med Sci Sports Exerc.* 2012 Mar; 44(3):397-405.
- 14- Peterson JM, Bryner RW, Sindler A, Frisbee JC, Alway SE. Mitochondrial apoptotic signaling is elevated in cardiac but not skeletal muscle in the obese Zucker rat and is reduced with aerobic exercise. *J Appl Physiol* (1985). 2008 Dec; 105(6):1934-43.
- 15- Marzetti E, Lawler JM, Hiona A, Manini T, Seo AY, Leeuwenburgh C. Modulation of age-induced apoptotic signaling and cellular remodeling by exercise and calorie restriction in skeletal muscle. *Free Radic Biol Med.* 2008 Jan; 44(2):160-8.
- 16- Lee SD, Shyu WC, Cheng IS, Kuo CH, Chan YS, Lin YM, et al. Effects of exercise training on cardiac apoptosis in obese rats. *Nutr Metab Cardiovasc Dis.* 2013 Jun; 23(6):566-73.
- 17- Marzetti E, Privitera G, Simili V, Wohlgemuth SE, Aulisa L, Pahor M, et al. Multiple pathways to the same end: mechanisms of myonuclear apoptosis in sarcopenia of aging. *Sci World J.* 2010 Feb; 10:340-9.
- 18- Laursen PB, Jenkins DG. The scientific basis for high-intensity interval training: optimising training programmes and maximising performance in highly trained endurance athletes. *Sports Med.* 2002 Jan; 32(1):53-73.
- 19- Rezaei S, Matinhomae H, Azarbayjani MA, farzanegi P. The effect of intense and moderate interval aerobic exercise and Curcumin consumption on the gene expression of c-Kit in stem cells of old rats heart. *J Adv Biomed Sci.* 2017 Spring; 7(1):68-76. [Full text in Persian]
- 20- Hardie DG. AMP-activated/SNF1 protein kinases: conserved guardians of cellular energy. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2007 Oct; 8(10):774-85.
- 21- Hoshino D, Yoshida Y, Kitaoka Y, Hatta H, Bonen A. High-intensity interval training increases intrinsic rates of mitochondrial fatty acid oxidation in rat red and white skeletal muscle. *Appl Physiol Nutr Metab.* 2013 Mar; 38(3): 326-33.
- 22- Azizi Qochan Z. Effect of high intensity interval training (HIIT) on PGC-1 α serum level and lipid profile of overweight women [dissertation]. Tehran: Pardis University; 2014.
- 23- Martinez PF, Okoshi K, Zornoff LA, Carvalho RF, Oliveira Junior SA, Lima AR, et al. Chronic heart failure induced skeletal muscle atrophy, necrosis, and changes in myogenic regulatory factors. *Med Sci Monit.* 2010 Dec; 16(12):374-83.
- 24- Sandri M, Lin J, Handschin C, Yang W, Arany ZP, Lecker SH, et al. PGC-1 α protects skeletal muscle from atrophy by suppressing FoxO3 action and atrophy-specific gene transcription. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2006 Oct; 103(44):16260-5.
- 25- Little JP, Safdar A, Bishop D, Tarnopolsky MA, Gibala MJ. An acute bout of high-intensity interval training increases the nuclear abundance of PGC-1 α and activates mitochondrial biogenesis in human skeletal muscle. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* 2011 Jun; 300(6):1303-1310.
- 26- Ju JS, Jeon SI, Park JY, Lee JY, Lee SC, Cho KJ, et al. Autophagy plays a role in skeletal muscle mitochondrial biogenesis in an endurance exercise-trained condition. *J Physiol Sci.* 2016 Sep; 66(5):417-30.